文章编号：0454-6296（2000）01-0007-06

亚洲玉米螟对常见植物甾醇代谢利用研究

祁云台， 林 浩
（中国科学院上海昆虫研究所，上海 200025）

摘要：亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* G. 在缺少甾醇的饲料上不能正常生长发育，能通过脱烷基化作用将$\triangle^5$-植物甾醇，如谷甾醇和豆甾醇脱去支链上的烷基变成胆甾醇加以利用，而对$\triangle^7$-烯甾烷醇的代谢则有困难。

关键词：亚洲玉米螟；植物甾醇；脱烷基化作用
中图分类号：Q965；Q966 **文献标识码**：A

甾醇中的胆甾醇是昆虫细胞膜的重要组成成分，也是合成蜕皮激素的前体。然而多数昆虫不能自身从脂类或碳水化合物合成甾醇物质的环结构，必须从外源获取这类营养物质，以保证正常的生长发育和繁殖[1]。对植食性昆虫来说，植物内所含各种植物甾醇是所需要甾醇的重要来源。研究证明，植物甾醇多是二十八碳或二十九碳化合物，如常见$\triangle^5$-谷甾醇、$\triangle^5$-豆甾醇等，昆虫必须将之代谢成胆甾醇才能利用，这一转化的关键在于对植物甾醇支链C_{24}位上的脱烷基化作用[2]。因此研究各种昆虫对不同植物甾醇摄取、代谢利用能力及其差异则显得十分重要，有助于从植物与昆虫协同进化关系和控制昆虫对植物甾醇利用等方面发现新的昆虫生理、化学生态理论，并提出害虫防治的新策略、新途径。目前国内这方面报道尚不多见。本文主要报告重要的不同结构的植物甾醇对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* G. 生长发育影响的结果和被代谢利用的情况。

1 材料和方法

1.1 虫源

所试昆虫为室内长期饲养的亚洲玉米螟，室温（27±1)℃，光照周期为14L:10D (光:暗)。

1.2 饲料配制

采用李文谷等麦胚饲料配方[3]配制正常饲料；将正常饲料中所有的可能含有甾醇的成分，如麦胚、干酪素、琼脂等均用氯仿:甲醇（2:1，V/V）混合溶剂提取6次，经减压抽滤除去大部分溶剂后，再于80℃烘箱内烘烤除尽溶剂，确保甾醇含量不超过1μg/g，再按正常饲料配制方法配成无甾醇饲料；准确称取特定甾醇，溶于适量二氯甲烷中，按比例涂于一定量除去甾醇的干酪素麦胚混合粉（1:1，w/w）上，然后置于80℃烘箱内烘烤，挥发去二氯甲烷，最后再按正常饲料成分比例配制含有0.1%和0.2%（干重）单一甾醇饲料，即分别含有胆甾

基金项目：国家自然科学基金资助项目
收稿日期：1998-03-23；修订日期：1999-01-18

醇、谷甾醇、豆甾醇、和△^{7}-烯甾烷醇饲料。

1.3 甾醇对亚洲玉米螟生长发育影响

上述各种饲料每一种称取4份，每份20 g，分别置于塑料杯内，每杯接入2龄初亚洲玉米螟幼虫15头（每种饲料供试虫60头），盖上具有金属网孔塑料盖，盖内衬餐巾纸两层，置于27℃温室内，第9天检查各饲料组幼虫死亡率，称量存活幼虫体重，然后检查记录蛹峰出现时间（天）、化蛹率、平均蛹重和羽化率。

1.4 甾醇代谢利用分析

参照Mohammed等人（1982）方法[1]，对以正常饲料、0.2%谷甾醇饲料和0.2%豆甾醇饲料饲养的亚洲玉米螟5龄幼虫体内甾醇进行分离提取，不同之处是未作总脂测定，但对甾醇脂皂化及皂化后游离甾醇提取过程用胆甾醇标样做了回收率试验。皂化后提取的游离甾醇的纯化，使用了硅胶柱层析技术，柱长30 cm，内径1 cm，硅胶粒度100～140目，正己烷湿装柱，洗脱溶剂梯度为正己烷、6%、10%、20%、40%、60%、80%乙醚正己烷溶液和乙醚，甾醇在20%～40%乙醚正己烷馏分之内。在样品纯化之前也用胆甾醇标样做了回收率试验。柱层析纯化后甾醇样品馏分浓缩后直接用GC-9A毛细管气谱仪进行分析，条件如下：OV-17柱（25 m，0.25 mm），柱温250℃，进样器温度280℃，无分流进样，氢火焰检测器，载气为氮气，柱前压为2.5 kg/cm^{2}。在同样分析条件下，用标样比较确定样品内甾醇的种类和含量，最后计算每克虫体内有关甾醇的含量。

2 结果

2.1 植物甾醇对亚洲玉米螟生长发育影响

用正常饲料、无甾醇饲料和四种含有一定量特定甾醇饲料饲养亚洲玉米螟，目的在于考察比较该虫对各种植物甾醇的代谢利用情况（表1）。从表1中数据可以得出以下结论：

（1）亚洲玉米螟在除去甾醇的饲料上不能完成发育周期，饲养9天以后，死亡率高达50%，多数幼虫长势缓慢，平均体重仅为同期对照幼虫的1/16，存活的幼虫最后只有2头化蛹，1头羽化，而多数幼虫在化蛹之前陆续死亡。

（2）无甾醇饲料加入胆甾醇或谷甾醇后，亚洲玉米螟幼虫则能够正常生长发育，和正常饲料比较，各项生长发育指标没有显著差异，只是在时间上略滞后2～3天。而豆甾醇饲料虽能使亚洲玉米螟完成发育，但饲养9天后幼虫平均体重和化蛹率均低于对照、胆甾醇和谷甾醇饲料组。

（3）亚洲玉米螟在△^{7}-烯甾烷醇饲料上死亡率较高，存活幼虫虽能勉强生存，但各项生长发育指标与正常饲料、胆甾醇饲料和谷甾醇饲料上幼虫相比明显要差，仅有个别指标和豆甾醇饲料相近，化蛹率及羽化率都很低，羽化过程中蜕皮困难，且即使勉强羽化出的少数成虫也多为畸形，不能交配产卵传代。

（4）同一种甾醇两种不同含量（0.1%和0.2%）的饲料对亚洲玉米螟生长发育影响差异不大。

2.2 亚洲玉米螟5龄幼虫体内甾醇分析

按照我们使用的方法，成功地分离、提取、纯化了取食不同饲料的亚洲玉米螟5龄幼虫

表 1　常见植物甾醇对亚洲玉米螟生长发育影响

Table 1　The effects of common plant sterols on growth and development of *Ostrinia furnacalis*

饲料种类①	供试虫数②	饲养 9 天存活虫数③	死亡率(%)④	饲养 9 天幼虫平均体重(g)⑤	蛹峰时间(天)⑥	化蛹率(%)⑦	平均蛹重(g)⑧	羽化率(%)⑨
正常饲料⑩	60	56	6.6	0.099	13	74	0.087	85
无甾醇饲料⑪	60	30	50	0.006	—	7	0.060	50
胆甾醇饲料⑫								
0.1%	60	56	6.6	0.085	15	80	0.082	88
0.2%	60	57	5	0.083	15	70	0.079	83
谷甾醇饲料⑬								
0.1%	60	57	5	0.070	16	70	0.077	92.5
0.2%	60	52	13.3	0.083	16	80	0.073	85.4
豆甾醇饲料⑭								
0.1%	60	56	6.6	0.036	16	62	0.076	85.7
0.2%	60	58	3.3	0.042	16	60	0.074	84
$\triangle^7$-烯甾烷醇饲料⑮								
0.1%	60	48	20	0.045	17	45.8	0.063	22.6
0.2%	60	46	23	0.045	17	47.8	0.062	18.2

①kind of diets; ②number of insects tested; ③number of survival larvae on 9th day; ④mortality(%); ⑤average weight of larvae on 9th day(g); ⑥pupation peak(day); ⑦pupation rate(%); ⑧average weight of pupa(g); ⑨emergence rate(%); ⑩normal diet; ⑪diet without sterols; ⑫cholesterol diet; ⑬sitosterol diet; ⑭stigmasterol diet; ⑮$\triangle^7$-lathosterol diet

体内的甾醇，并用毛细管气谱分析了甾醇的含量（图 1）。表 2 则是根据气谱分析结果列举了取食正常饲料、谷甾醇饲料和豆甾醇饲料的亚洲玉米螟 5 龄幼虫胆甾醇含量。按每克体重含胆甾醇微克数计算，正常饲料虫和谷甾醇饲料虫水平接近，分别为 430.74 μg/g 和 446.304 μg/g，而豆甾醇饲料虫的胆甾醇含量明显偏低，仅为 297.374 μg/g，相当于前两个试验组的 69% 和 66.6%。

表 2　取食不同饲料的亚洲玉米螟 5 龄幼虫胆甾醇含量*

Table 2　Analysis of cholesterol in 5th instar larvae of *Ostrinia furnacalis* fed on different diets

饲料种类 Kind of diets	胆甾醇含量 Cholesterol quantity (μg/g)
正常饲料 normal diet	430.74（±17.585）
谷甾醇饲料 sitosterol diet	446.304（±19.485）
豆甾醇饲料 stigmasterol diet	297.374（±23.868）

* 3 次试验平均（3 replicates）

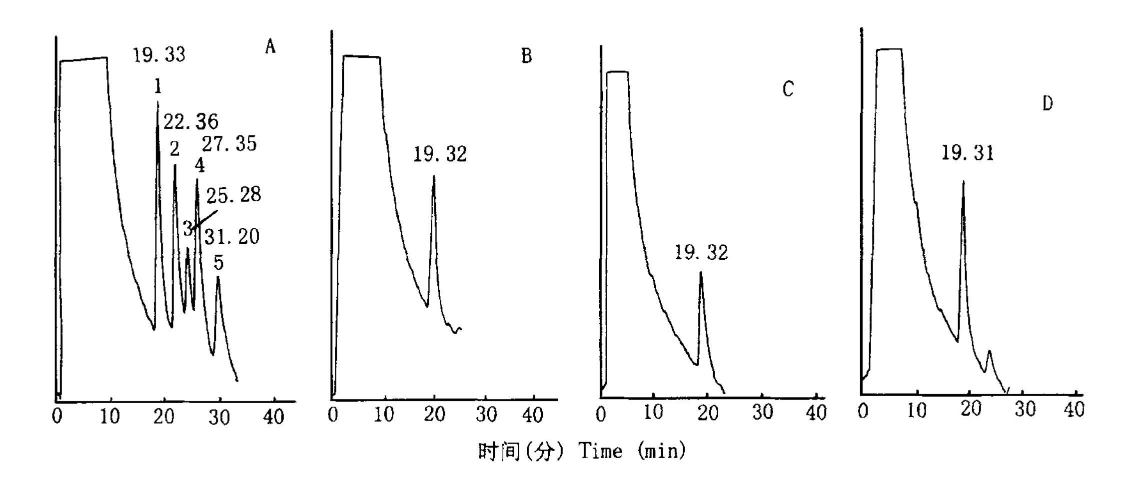


图 1　甾醇毛细管气谱分析图谱

Fig. 1　The analytical spectra of sterols by capillary GC

OV-17 柱（25m，0.25mm）；柱温 250℃；检测器温度 280℃；氮载气柱前压 2.5kg/cm^2；氢火焰检测器；无分流进样〔OV-17 column (25m，0.25mm)；column temperature 250℃；detector temperature 280℃；N_2 pressure of pre-column 2.5kg/cm^2；FID detector：unsplit injecting sample〕

A. 常见植物甾醇标准样品分析图谱（The analytical spectrum of standard sample of common sterols）：
1. 胆甾醇 cholesterol；2. $\triangle^7$-烯甾烷醇 $\triangle^7$-lathosterol；3. 菜油甾醇 campesterol；4. 豆甾醇 stigmasterol；5. 谷甾醇 sitosterol；

B. 正常饲料饲养亚洲玉米螟 5 龄幼虫体内胆甾醇分析图谱（The analytical spectrum of cholesterol in 5th instar larvae of *Ostrinia furnacalis* fed on normal diet）；

C. 豆甾醇饲料饲养亚洲玉米螟 5 龄幼虫体内胆甾醇分析图谱（The analytical spectrum of cholesterol in 5th instar larvae of *O. furnacalis* fed on stigmasterol diet）；

D. 谷甾醇饲料饲养亚洲玉米螟 5 龄幼虫体内胆甾醇分析图谱（The analytical spectrum of cholesterol in 5th instar larvae of *O. furnacalis* fed on sitosterol diet）

3 讨论

对多数植食性昆虫来说，之所以能够利用植物甾醇，就在于它们能在中肠通过脱烷基化作用将植物甾醇转化为胆甾醇，成为细胞膜的组成成分或蜕皮酮的合成前体。脱烷基过程可能包括植物甾醇支链上 C_{24-28}键去饱和，然后此双键被环氧化，继而酸催化打开环氧环，最后发生 C_{24-28}键裂解[4]。从我们的研究结果看，食料中缺少甾醇，亚洲玉米螟不能正常生长发育，一旦重新加入胆甾醇或谷甾醇后则生长发育正常，加入豆甾醇以后，也基本能够生长发育。这不但说明了甾醇物质对亚洲玉米螟生长发育的必须性，而且说明此虫对植物甾醇的代谢利用能力。然而昆虫对植物甾醇的利用受到甾醇结构的限制和影响。我们的试验结果表明，亚洲玉米螟对双键在环结构 C_5 位上的植物甾醇，即$\triangle^5$-甾醇，如谷甾醇和豆甾醇便于代谢。如表 1 所示，在这些甾醇饲料组上的亚洲玉米螟幼虫和正常饲料组一样，均能顺利完成生长发育，尽管发育时间推迟了一些。和$\triangle^5$-甾醇相反，$\triangle^7$-甾醇，即环结构双键位置在 C_7 上的甾醇对亚洲玉米螟代谢则表现出明显障碍作用，如在$\triangle^7$-烯甾烷醇饲料上则不能正常生长发育。究竟为什么多数昆虫对$\triangle^7$-甾醇的利用比$\triangle^5$-甾醇差，原因尚不清楚。根据 MacDonald 等人（1990）的推测[5]，可能是由于 C_7 上双键的存在，改变了甾醇分子的三维构型，从而影响了$\triangle^7$-甾醇在类脂双分子层中与膦脂错杂相间的适合度，因此不能成为有效的膜成分。然而却不清楚为何有的昆虫种类，如一种果蝇 *Drosophila pachea* 能在发育中专一利用$\triangle^7$-甾醇，而墨西哥瓢虫 *Epilachna varivestis* 实际上能在含有$\triangle^5$-甾醇的饲料上合成$\triangle^7$-甾醇。

在我们的实验结果中还显示，同一甾醇两种不同含量（0.1%，0.2%）的饲料对亚洲玉米螟生长发育各项指标的影响不大，说明低含量甾醇已能满足生理需要，含量增加一倍也无害。谷甾醇和豆甾醇是植物中最为常见的甾醇，也是植食性昆虫维持正常生长发育最重要的甾醇种类，因此我们首先对这两种甾醇在亚洲玉米螟幼虫体内代谢利用情况进行了分析。根据文献报道，使用气相色谱技术分析甾醇类物质，多需要经过衍生化反应。而在我们的研究过程中，通过适当改进气谱分析条件，如增加载气流速，尽量缩短毛细管柱出口至检测器间的距离，加大尾吹流量，可以直接对甾醇类物质进行分析，并得到了较好的峰形和分离效果。当然，按照我们先提取甾醇脂，经过皂化，再分离纯化游离甾醇的处理方法，只能得到吸收代谢利用后的甾醇部分。分析结果进一步证实，亚洲玉米螟在单纯含有谷甾醇或豆甾醇饲料上确实能将之吸收代谢成胆甾醇。然而从生长发育的历程看，要稍微滞后些，这正说明对这两种常见植物甾醇的利用需要一个脱烷基转化过程。特别是豆甾醇饲料上的亚洲玉米螟，虽也能最终完成生长发育，但发育滞后时间更长些，饲养第 9 天幼虫平均体重仅为正常饲料和谷甾醇饲料上同期幼虫的一半，化蛹率也低些，这可能是由于谷甾醇脱去支链上的烷基即可成为所需要的胆甾醇，利用较为方便，而豆甾醇除需要脱烷基之外，尚需要对支链 C_{22}位上的一个双键进行氢化还原才能变成胆甾醇，这必然涉及另外酶系催化代谢过程，增加了豆甾醇在亚洲玉米螟体内代谢过程的复杂性和转化时间。有关豆甾醇详细代谢过程有待进一步探讨。至于$\triangle^7$-烯甾烷醇饲料上亚洲玉米螟幼虫体内甾醇含量，由于幼虫不能正常生长，取材困难，故未能进行分析。

多年来普遍认为，多数昆虫能将二十八碳和二十九碳植物甾醇支链 C_{24}位上的烷基或烷烯

基脱去，转化为胆甾醇，满足生长发育中对该化合物的需要。然而近年来研究证明，昆虫对植物甾醇的代谢利用存在多种方式，尤其是植食性昆虫和杂食性昆虫之间存在着巨大差异，即便同是植食性昆虫，也不是都能将植物甾醇转化成胆甾醇，在膜翅目中至今尚未发现有将植物甾醇转化成胆甾醇的种类，如一些胡蜂和蚂蚁可以从食物中直接取得胆甾醇，蜜蜂则对二十七碳胆甾醇没有生理需要，而是在代谢中产生二十八碳蜕皮甾类物质 makisterone A。在半翅目、双翅目和鞘翅目中的一些种类也有类似的情况[6]。总之，昆虫对植物甾醇代谢利用机理及其应用是一个既有理论意义，又有实用价值的研究领域，应当得到足够重视。

参 考 文 献 (References)

[1] Mohammed A J AL-Izzi, Hopkins T L. Dietary sterol utilization during development and reproduction of the corn borer, *Diatraea grandiosella*. Comp. Biochem. Physiol., 1982, 71B (4): 637～641

[2] Feldlaufer M F, Svoboda J A. Sterol utilization and ecdysteroid content in the house fly, *Musca domestica* (L.). Insect Biochem., 1991, 21 (1): 53～56

[3] 李文谷，郦一平，何永刚. 一种适用于多种棉花鳞翅目害虫的麦胚饲料. 昆虫学研究集刊，1991，第10集，35～40

[4] Corio-Costed Marie F *et al*. Metabolism of dietary $\triangle^8$-sterols and 9 β, 19-cyclopropyl sterols by *Locusta migratoria*. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1989, 11: 47～62

[5] MacDonald D L *et al*. Differences in the sterol composition of *Heliothis zea* fed on *Zea mays* versus *Medicag sativa*. Insect Biochem., 1990, 20 (4): 437～442

[6] Svoboba J A , Lusby W R. Sterols of phytophagous and omnivorous species of Hymenoptera. Arch. Insect Biochem. Physiol., 1986, 3: 13～18

Study on metabolism and utilization of common plant sterols by Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis* G.)

QI Yun-tai, LIN Hao

(Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica, Shanghai 200025)

Abstract: The bioassay data showed that the Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis* G.) was unable to grow and develop on diet without sterols . When cholesterol or sitosterol was added to the diet without sterols , the larvae could normally grow and develop. They could also grow and develop on the stigmasterol diet, but the average body weight of 9-day larvae and pupation ratio were lower than that of the control and the cholesterol and sitosterol diet groups. The $\triangle^7$-lathosterol in diet was difficult to be metabolized in this species. After extraction and purification, the samples of sterols were analyzed by capillary GC. The results indicated that the quantity of cholesterol in 5th instar larvae of Asian corn borer fed on sitosterol diet was similar to that of the ones fed on normal diet, however the quantity of cholesterol in 5th instar larvae fed on stigmasterol diet was much lower. The results suggest that in Asian corn borer $\triangle^5$-plant sterols-sitosterol and stigmasterol could be converted to cholesterol by dealkylation at C_{24} of the side chain. But there exists metabolic difference between sitosterol and stigmasterol.

Key words: Asian corn borer; plant sterols; dealkylation